Aus dem Pathologischen Institut der Universität Würzburg.
Vorstand: Prof. Dr. Hermann Groll.

Über Eiweißfällung im Protoplasma durch Labferment

Inaugural-Dissertation

verfaßt und einer

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Julius-Maximilians-Universität Würzburg

zur

Erlangung der Doktorwürde

vorgelegt von

Walter Schanz

aus München.

1939

Buchdruckerei Richard Mayr, Würzburg

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Würzburg.

Berichterstatter:
Professor Dr. Hermann Groll.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Meinen lieben Eltern

in Dankbarkeit

gewidmet.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543516_0029

Über intravitale Gerinnungsvorgänge im menschlichen Körper wissen wir noch außerordentlich wenig, obwohl ja solche Gerinnungsvorgänge sehr häufig gefunden werden. Ich erinnere nur an die so häufige Gerinnung der Bluteiweißkörper bei der Entstehung von Thromben, an die Gerinnung beim Absterben des Gewebes die sogenannte Koagulationsnekrose (Weigert) oder an die Ausfällungen und Gerinnungen, wie sie bei der trüben Schwellung der Zellen beobachtet werden können. Wollen wir uns zum Beispiel über die Koagulationsnekrose aus den Lehrbüchern der jüngsten Zeit informieren, so finden wir zunächst bei Aschoff folgende Ansicht:

„In dem von allen Seiten einströmenden Plasma quillt das seiner Ernährung beraubte und daher absterbende Parenchym. Daher kommt es in den Infarkten der Leber und der Niere zu Gerinnungsprozessen, welche den Herd fester erscheinen lassen als die Umgebung."

Oder ebendort von E. v. Gierke:

„Bei der Koagulationsnekrose (Weigert) mit Gewebsverfestigung gerinnen die Eiweißsubstanzen in den Zellen zu einer in Wasser, Neutralsalzen, verdünnten Säuren und Alkalien unlöslichen Substanz, so daß sie ein homogenes scholliges Aussehen gewinnen. Auch die interzelluläre Flüssigkeit kann gerinnen und ein fibrinöses, fibrinoides Maschenwerk zwischen den Zellen bilden."

In der jüngst erschienenen neuen Auflage des Lehrbuches von Dietrich schreibt dieser:

„Untergang mit Gerinnung (Koagulationsnekrose) hat eine Durchtränkung des Gewebes mit gerinnungsfähiger Substanz zur Voraussetzung, so daß aus dem zerfallenden Gewebe eine zusammenhaltende gleichmäßige Masse wird. Das Protoplasma ist grob-

schollig angeordnet oder zu einer gleichmäßig geronnenen Masse zusammengesintert."

In den Lehrbüchern wird also nur die Tatsache der Gerinnung geschildert, aber mit keinem Wort die Frage angeschnitten, warum denn die Zelleiweißsubstanzen zur Gerinnung kommen, offenbar weil wir über die Ursache dieser Gerinnung nichts Sicheres wissen. Es geht dies auch aus der eingehenden Besprechung der verschiedenen einschlägigen Hypothesen durch P. Ernst in Krehl-Marchands Handbuch hervor: Immer noch scheint die klassische Weigert'sche Hypothese über die Koagulationsnekrose nicht widerlegt. Weigert hat versucht, die Koagulationsnekrose, den Gerinnungstod, der Fibringerinnung anzupassen. Wenn er auch öfters betont, daß Koagulationsnekrose und Gerinnung des Fibrins nicht identisch seien, so hielt er sie doch für ähnliche, prinzipiell zusammengehörige Vorgänge.

Daß die Zelle gerinnungsfähige Eiweißkörper enthält, ist zweifellos. Ebenso wie diese durch Alkohol und Hitze koaguliert werden können, so werden sie auch durch Fermente gerinnbar sein, die durch das bespülende Plasma geboten werden.

Es ist nicht unmöglich, daß das durchströmende Plasma gleichzeitig sowohl das Chromatin der Kerne, das Haemoglobin der Erythrozyten auslaugt und zudem das Zelleiweiß zum Gerinnen bringt. Nach Weigert sind Kernschwund und Koagulationsnekrose Coeffekte derselben Ursache. Die Zellgerinnung läßt sich auch so denken, daß das Plasma das Fibrinogen heranführt und die absterbende Zelle das Gerinnungsferment liefert; denn Koaguline sind ja in vielen Zellarten nachgewiesen.

Gegenüber verschiedenen Angriffen versuchten später Schmaus und Albrecht die Weigert'sche Hypothese von der Zellgerinnung mit großem Geschick zu retten. Sie schlossen auf einen echten Gerinnungsvorgang, d. h. Bildung eines in Wasser, Neutralsalzen, verdünnten Säuren und Alkalien unlöslichen Körpers aus flüssigen Bestandteilen und zwar in der Zelle selbst. Albrecht kommt schließlich zur Unterscheidung einer trüben Schwellung ohne Gerinnung und einer solchen mit Gerinnung. Die Gerinnung des Zelleibes nach Weigert ist also durch Schmaus und Albrecht gestützt im Sinne der physikalischen Chemie.

Ernst glaubt nun, daß die Gerinnung wahrscheinlich weiter gefaßt werden kann, als Schmaus und Albrecht taten, und er erinnert an das Wort Israels, daß wachsende Erkenntnis der physikalischen und chemischen Eigenschaften wieder zur Anerkennung der Koagulationsnekrose führen könne. Der Begriff Koagulation der Colloidchemie kommt nach Ernst dieser Anschauung entgegen. Mehr oder weniger gleichbedeutend mit Fällung, Präcipitation, Gelation, Gelbildung, Gerinnung, Ausflockung bezeichnet er die Verringerung des Dispersitätsgrades der dispersen Phase unter Aufgabe der Homogenität der räumlichen Verteilung (Ostwald). Auch der Übergang in steife Gallerten, die Gerinnung, gehört hierher. Zum Schluß glaubt P. Ernst, daß wir in dieser Richtung sicher noch ein Stück vorwärts kommen werden, aber über die Ursache der „Verringerung des Dispersitätsgrades" schweigt er sich gleichfalls vollkommen aus.

Auch in der neuesten Literatur finden wir nichts über die letzte Ursache der Gerinnung; denn wenn Orsos die Gerinnungsnekrose als eine vitale Reaktion bezeichnet, so wissen wir ja doch nicht, warum diese Reaktion gerade zu einer Protoplasmagerinnung führt. Oder wenn andere Autoren das Einströmen von Blutflüssigkeit in das Gewebe — eine gewisse Wiederholung der alten Weigert'schen Anschauung — betonen, so ist mit einem solchen Einströmen ja auch noch nicht die Ursache der Gerinnung geklärt, mag man den Vorgang des Einströmens nun mit Schürmann als Dysorie bezeichnen oder mit Terbrüggen an eine Art Giftwirkung des Serums denken. Ferner finden wir bei Borger:

„Das Zustandekommen einer Nekrose, die in einer eigentümlichen Umwandlung des absterbenden Gewebes besteht, scheint immer an den lebenden Organismus gebunden, auch wenn man von der zelligen Reaktion absieht.

Auf welche Weise die Koagulationsnekrose zustande kommt, ist unbekannt; wenigstens kann keine der zur Erklärung dienenden Hypothesen befriedigen. Als Folge einer Kathepsinwirkung kann sie jedenfalls unseren bisherigen Erkenntnissen nach nicht aufgefaßt werden.

Man darf sich als Arbeitshypothese den Vorgang der Infarktbildung vielleicht so vorstellen: Das durch Abschnürung von der

Blutversorgung zugrunde gehende Gewebe, das für den Organismus funktionell wertlos geworden ist, darf nicht — wie bei der postmortalen Autolyse — durch seine Gewebsproteasen abgebaut werden, weil der Organismus sonst plötzlich durch größere Mengen parenteral zu resorbierender Eiweißabbauprodukte geschädigt würde. Der Abbau des nekrotischen Gewebes wird also durch Zerstörung der autolytischen Kraft der Gewebsenzyme verhindert. Wodurch die Zerstörung der autolytischen Wirksamkeit der Gewebsproteasen erfolgt, ist noch unklar. Ungeklärt ist ferner, ob die proteolytischen Enzyme im Infarkt wirklich zerstört sind oder etwa eine Modifikation ihrer Wirksamkeit erfahren haben."

Bei ihren Untersuchungen über die Kolliquationsnekrose vertritt B. Mayer die Ansicht, die Entstehung der Eiweißgerinnung sei nicht auf Koagulase, sondern auf andere Faktoren, etwa auf physikalisch-chemische Zustandsänderungen zurückzuführen.

So stoßen wir also wieder auf das Eingeständnis, daß wir über die Ursachen der Gerinnung des Gewebes nichts wissen.

Es war daher naheliegend, da neben der Blutgerinnung die Milchgerinnung wohl der meist untersuchte Gerinnungsvorgang sein dürfte, die Wirkung von Labferment, von Chymase, auf Gewebszellen zu untersuchen. Allerdings besteht auch bei diesen Untersuchungen der Milchgerinnung noch manche Unklarheit und verschiedene Ansichten und Theorien stehen einander gegenüber, von denen wir nur kurz einige im Auszug aus Oppenheimer erwähnen wollen:

„Eines der früher eingehend behandelten Grundprobleme dürfte wohl heute als endgültig abgeschlossen betrachtet werden: Das Enzym Chymase, als System betrachtet, hat mit dem Enzym Pepsin nichts zu tun (Untersuchungen von O. Hamarsten, bestätigt von Tauber und Kleiner).

Man wird sich daran gewöhnen müssen, das eigentliche Labferment im strengsten Sinne von der „labenden Wirkung" anderer Enzyme scharf zu trennen.

Als Gegensatz zur Chymase kann der von Bang geschaffene Terminus „Parachymosine" bestehen bleiben. Parachymosine sind dann je nachdem Pepsin, Chymotrypsin und Papainasen."

„Demnach enthalten also alle Proteinasen lebende Enzyme und man kann annehmen, daß die Veränderung des Kaseinogens, die zur Gerinnung führt, zwangsläufig eingebaut ist in den proteolytischen Abbau dieses Proteins an sich."

Wenn auch die Meinungen über die Theorie des Gerinnungsvorganges der Milch noch sehr unterschiedliche sind, so werden doch meist zwei Phasen angenommen: Zerstörung des Schutzkolloids (erster Enzymangriff) und Ausfällung unter Bildung von Caseincalciumsalzen (Beau, Tauber und Kleiner, Richardson und Palmer). Erwähnt sei noch die fördernde Calciumsalzwirkung: nach Rüdiger und Wurster bis zur Gesamtkonzentration von 1,42‰ $CaCl_2$ — während höhere Konzentrationen hemmen.

Zur Orientierung untersuchten wir zuerst die Chymaseeinwirkung auf totes, aber natives Gewebe.

Orientierender Versuch: Kaninchenniere, frisch mit dem Messertiefkühler geschnitten, auf Glimmer aufgeklebt und in physiologische NaCl-Lösung mit 1% Chymase und einigen Tropfen $^1/_3$ mol. Phosphatpuffer Ph 5 und Ph 6 bei 40° eingelegt. Nach 30 Minuten der Lösung entnommen, erscheinen die ungefärbten Schnitte makroskopisch und mikroskopisch etwas trübe, wie geschwollen oder geronnen. Färbung nach B. Mayer ohne vorherige Fixation. Mikroskopisches Bild: Gewundene Kanälchen diffus blaugrau, keine deutlichen Kerne, keine Kanälchenlumina sichtbar, keine deutlichen Zellkonturen. Dagegen da und dort Lücken und Spalten, wie wenn das Plasma angedaut oder angenagt wäre. Bei starker Vergrößerung Kerne noch erkennbar, insbesondere eine schwach gefärbte Zellmembran, auffallend erhaltene Glomeruli- und Bindegewebskerne, keine Strukturänderung.

Aus Gründen der Sparsamkeit verwandten wir für die weiteren Versuche zunächst Mäuse nieren und Mäuse leber.

Im Gegensatz zum ersten Versuch — Chymaseeinwirkung auf Kaninchennierenschnitte — zeigten Mäuseleber- und Mäusenierenschnitte nach 30 Minuten dauernder Einwirkung von 1‰ Papainlösung, Phosphatpuffer Ph 5 ein etwas anderes Bild: „Die Schnitte erschienen diffus blaugrau gefärbt, wie koaguliert, ähnlich wie sich kernlose Infarkte färben, nur daß man den Eindruck bekommt, als sei das Zellprotoplasma ebenso wie die Kerne da und dort an-

genagt, vielleicht angedaut. Insbesondere waren auch die Glomeruli und das Bindegewebe in die „Verdauungsgerinnung" mit einbezogen" (Groll).

Mit 1% Chymaselösung und den gleichen Phosphaten wie bei Papain ergab sich aber überhaupt keine Veränderung. Da die Verdauungsgerinnung durch Papain nur bei einer Konzentration zwischen 0,05 und 4% auftritt (Groll), änderten wir die Chymasekonzentration; aber auch bei verschiedenen Konzentrationen zwischen 1‰ und 2% Chymase verliefen die Versuche negativ.

Im weiteren versuchten wir durch $CaCl_2$-Zusatz in Konzentrationen von 0,285‰ bis 1,14‰ als Maximum (Rüdiger u. Wurster) die Gerinnung (analog der Milchgerinnung) zu fördern. Die Versuche führten alle trotz Wahrung des physiologisch-osmotischen Druckes ohne Pufferung schon in kürzester Zeit (5 Min.) zu einer vollständigen Auflösung der Gewebsschnitte. In Lösungen von 2% Chymase und $CaCl_2$-Zusatz verzögerte sich der Vorgang, während er ohne Chymase in etwa 3 Minuten ablief. Dies alles macht es wahrscheinlich, daß es sich bei dieser Gewebsauflösung um chemisch-physikalische Desaggregationen handelte; bei näherer Untersuchung zeigte sich, daß das verwendete $CaCl_2$ alkalisch war und als Lauge wirkte.

Bei Wiederholung unseres allerersten Versuches, Kaninchenniere in 1% Chymaselösung mit wenigen Tropfen Phosphatpuffer oder ohne Puffer, fanden wir bei Färbung o h n e vorherige Fixierung deutliche Gerinnung im mikroskopischen Bild (vgl. oben den ersten Versuch). Bei F i x i e r u n g vor dem Färben ergibt sich dagegen ein annähernd normales histologisches Bild, das durchaus nicht dem der sogenannten Papainverdauungsgerinnung gleicht.

Da bei Mäusenieren auch ohne Puffer und ohne Fixierung keine Gerinnung zu erzielen war, bei der Kaninchenniere aber ohne Puffer und ohne Fixation eine, wenn auch geringe Wirkung, dachten wir im Hinblick auf die beim Kaninchenniereninfarkt so ausgedehnte Verkalkung (Schnappauf) und im Hinblick auf die gerinnungsfördernde Wirkung der Ca-Salze bei der Gerinnung (Rüdiger u. Wurster) durch Zusatz verschiedener $CaCl_2$-Konzentrationen eine gerinnungsfördernde Wirkung zu erzielen. Bei den Versuchen trotz Ca-Zusatz mit Phosphatpuffern keinerlei Gerinnungs-

wirkung, obwohl die Präparate vor der Färbung nicht fixiert wurden, aber auch keine Auflösung der Gewebsschnitte. In den früheren Versuchen (s. oben) war bei dem Zusatz von $CaCl_2$ keine Phosphatpufferung verwendet worden; da bei den Versuchen mit Phosphatpufferung die gewebslösende $CaCl_2$-Wirkung ausblieb, mußten offenbar die Phosphatpuffer die $CaCl_2$-Wirkung aufheben.

Wir verwendeten jetzt zunächst einmal an Stelle des Phosphatpuffers Glykokoll Ph 6,0—6,7 in verschiedenen Konzentrationen und fanden, daß bei Chymasezusatz in vor der Färbung unfixierten Präparaten eine Gerinnung des Protoplasmas der gewundenen Kanälchen feststellbar war, so daß die Kerne kaum mehr sichtbar erschienen, daß dagegen die Kerne der Glomeruli und die Bindegewebskerne gut färbbar erhalten blieben. Die Gerinnung war zwar ähnlich der bei den Kaninchennieren, aber bei den Mäusenieren doch nicht so ausgesprochen. Wir versuchten nun auch hier, durch wechselnden Zusatz von $CaCl_2$ zwischen 0,28 und 1,14‰ eine Förderung der Gerinnung zu erzielen. Die schwächsten Konzentrationen haben niemals eine deutliche Wirkung ausgeübt; dagegen fanden wir manchmal bessere Gerinnung bei $CaCl_2$ ungefähr 1‰, manchmal bei $CaCl_2$ 0,57‰. Es könnte sich dies daraus erklären, daß ja nach den bisher bekannten Versuchen der Kalkgehalt bei den tierischen Organen außerordentlich wechselnd ist (Zondeck: Die Elektrolyte). In diesem Sinne würde auch sprechen, daß bei der wahrscheinlich von vornherein kalkhaltigeren Kaninchenniere auch o h n e Ca-Zusatz die Fällung deutlicher in Erscheinung tritt als bei der Mäuseniere. Am deutlichsten zeigten das Versuche, bei denen wir an Kaninchennieren neben Chymase auch noch die Wirkung von $CaCl_2$-Zusatz untersuchten. Es ergab sich bei dem verwendeten Glykokollpuffer Ph 6,1—6,5, daß $CaCl_2$ 1,14‰ eine Hemmung der Eiweißfällung hervorrief, so daß also offenbar bei den schon an sich kalkreicheren Kaninchennieren die Konzentration des Kalkgehaltes wahrscheinlich über 1,42‰ angestiegen ist.

Resultat der bisherigen an nativen unfixierten Gewebsschnitten bei Einwirkung von Chymase gewonnenen Untersuchungsergebnisse:

Im Ph-Bereich von 6,0—6,5 ruft Chymase bei ½stündiger Ein-

wirkung bei 40° eine Einweißfällung hervor. Nebenher geht auch noch eine geringe Verdauung des Gewebes und zwar vorwiegend des Protoplasmas der gewundenen Kanälchen. Diese verdauende Wirkung könnte entweder auf einer verdauenden Wirkung der Chymase an sich beruhen, da ja angenommen wird, daß auch bei der Caseinfällung vielleicht als Anfangseffekt die Verdauung eines als Schutzkolloid wirkenden Eiweißkörpers vorliegen könnte (vgl. Holter, Oppenheimer 870). Die zweite an sich noch wahrscheinlichere Möglichkeit ist die, daß auch noch Pepsin der von uns verwendeten Chymase beigemengt ist, da ja auch bei den heutigen Fermentreinigungsmethoden es so gut wie unmöglich ist, absolut reine Fermente herzustellen. Selbstverständlich kann ein eventuell beigemengtes Pepsin in Ph 6 nur noch in ganz geringfügiger Weise verdauend einwirken.

Eine zweite ganz interessante Erscheinung ist die, daß Phosphatpuffer absolut hemmend wirken, während bei Glykokoll als Puffer die Gerinnung mit und ohne $CaCl_2$ eintreten kann. Die Konzentration des die Gerinnung fördernden $CaCl_2$ ist bei der von uns angewandten Methode an Gewebsschnitten hinsichtlich ihres Optimums offenbar deshalb wechselnd, weil der Kalkgehalt des Gewebes nicht nur bei einzelnen Tierarten, sondern auch bei verschiedenen Tiernindividuen verschieden ist. Wir konnten durch unsere Versuche jedenfalls bestätigen, daß bei zu hohem $CaCl_2$-Zusatz die Ausfällung gehemmt wird entsprechend der Hemmung der Milchgerinnung bei zu großem $CaCl_2$-Zusatz.

Drittens ergibt der Vergleich der durch Chymase erzielten Gerinnung im Gewebe mit der Papainwirkung zwar eine histologische Ähnlichkeit, aber doch auch eine deutliche Verschiedenheit: kaum merkbare Einwirkung auf die Kernsubstanzen. Die Kernkonturen waren noch, wenn auch nur andeutungsweise, vorhanden; ebenso fehlten jegliche Einwirkungen auf die Glomeruli- und Bindegewebskerne. Dann der wesentliche Unterschied, daß diese Chymasefällung offenbar in gewissem Grade reversibel ist; denn bei Fixierung der Präparate in Alkohol ist von einer Gerinnung nichts mehr feststellbar, ganz im Gegensatz zur Papainwirkung, wo die Verdauungsgerinnung nach der Alkoholfixierung ebenso nachweisbar ist wie ohne Fixierung. Die Art der Fällung durch Chymase einerseits

und Papain andererseits muß also nach unseren Untersuchungen prinzipiell verschieden sein, nachdem in dem einen Fall eine reversible, im anderen Fall eine irreversible Fällung vorzuliegen scheint. Dieser allerdings aus einem eigenartigen histologischen Bild hervorgehende Untersuchungsbefund würde nicht dafür sprechen, daß, wie Oppenheim meint, die Chymase ein Kathepsin der Magenwand ist und damit als selbständiges Enzym überhaupt ausgespielt hätte. Man könnte doch daran denken, daß eben Chymase wegen seiner andersartigen, im histologischen Bild erkennbaren Gerinnungswirkung sich von dem Typ der Kathepsine, dem Papain, wesentlich unterscheidet. Diese eigentümliche Reversibilität der Fällung erinnert den Histologen an die alte Unterscheidung Eugen Albrechts in eine trübe Schwellung ohne und eine mit Gerinnung. Auch unsere mit Chymase behandelten Präparate zeigten bei der mikroskopischen Untersuchung eine deutliche Trübung und man könnte schon daran denken, daß die nicht durch Gerinnung bedingte Zellumwandlung Albrechts möglicherweise auch letzten Endes auf eine durch Fermentwirkung ausgelöste koloidchemische Zustandsänderung des Protoplasmas zurückgeführt werden könnte.

Nach diesen an toten, allerdings noch nativen Gewebsschnitten gefundenen Ausfällungen mußte es interessieren, ob entsprechend der Koagulationsnekrose beim Infarkt durch intravitale Injektion verschiedener Fermente, durch Labfermente, insbesondere Chymase, auch im Körper eine Gerinnungswirkung hervorgerufen werden könnte. Unsere Überlegungen gingen zunächst davon aus, daß entsprechend der alten Weigert'schen Theorie durch Einströmen und Diffundieren irgend eines Fermentes die Gerinnung der vorher abgestorbenen Zellen erfolgt. Zu diesen Versuchen wählten wir Kaninchen. Wir unterbanden ihnen in Urethannarkose nach Laparatomie die linke Nierenarterie und schlossen provisorisch die Leibeshöhle auf zwei bis zweieinhalb Stunden. Nach den bekannten klassischen Versuchen ist das Nierengewebe nach eineinhalb- bis zweistündiger Unterbindung als tot zu betrachten, obwohl noch keine histologisch faßbare Veränderung in diesem Zeitpunkt festgestellt werden kann. Bekanntlich treten die histologischen Veränderungen, insbesondere die Gerinnung, erst nach Wiederdurchströmung auf. Wir konnten deshalb die Arbeitshypothese aufstel-

len, daß bei Injektion von Fermenten und Wiederdurchströmung der aus der Zirkulation ausgeschlossen gewesenen Niere die morphologischen Veränderungen, insbesondere die Gerinnung, frühzeitiger auftreten würde. Aus diesem Grunde injizierten wir zunächst einmal Chymase in immer 1%iger steriler, physiologischer Kochsalzlösung in Mengen von 5 bis 30 ccm. Nach Ablauf der zwei Stunden legten wir als erstes die Bauchaorta frei und banden in sie eine Glaskanüle ein zur Injektion der Fermentlösung. Auch hier variierten wir die Versuchsanordnung insofern, als wir erstens nach Lösung der Nierenarterienligatur Injektionen in die Bauchaorta unterhalb der Abzweigung der Nierenarterien gegen den Blutstrom machten, so daß eine Vermengung des Fermentes mit dem Blute zustande kam, das heißt es mußte eine Erhöhung des Fermentgehaltes im Blute auftreten. Zweitens injizierten wir durch die oben erwähnte Kanüle die Fermentlösung bei vollständiger Unterbrechung der Blutzirkulation in der gesunden und der geschädigten Niere durch temporäre Abklemmung der Aorta oberhalb der beiden Nierenarterien. Ein Teil der Fermentlösung fließt bei dieser Methodik allerdings auch in die Mesenterialgefäße, in die Nebennieren und in einige lumbale Arterien. Das Einströmen in diese Mesenterialgefäße verhinderten wir in zwei Versuchen durch Abklemmen der Mesenterialgefäße, um so noch mehr die Nieren der Fermentwirkung aussetzen zu können. Drittens: Eine weitere Variation der Versuchsanordnung bestand darin, daß wir entweder nach Injektion der Fermentlösung die Zirkulation in beiden Nieren durch Öffnen der oberen Aortenklemme wieder in Gang setzten und 30 Minuten wieder andauern ließen, oder daß wir auf eine Durchströmung der beiden Nieren verzichteten, also nicht eigentlich eine vitale, sondern nur eine supravitale Fermentwirkung erwarten konnten.

Neben und nach makroskopischer Beobachtung wurden erstens einmal frisch mit dem Messertiefkühler angefertigte ungefärbte und ebenso mit verschiedenen Färbungsmethoden gefärbte Schnitte untersucht, wobei Färbungen ohne vorhergehende Fixierung, also eigentlich eine Art supravitaler Färbung angewandt wurde. Ferner wurde jeweils die Hälfte der Niere in Formalin fixiert und nach der gewöhnlichen Methode mit Haematoxilin-Eosin und mit Haemalaun nach B. Mayer gefärbt.

Die Versuchsergebnisse waren bei allen Chymaseinjektionen im Prinzip ganz gleichartig. Zunächst einmal die Tatsache, daß keine Blutgerinnung auftrat, woran man doch eventuell hätte denken können. Im Gegenteil, die Injektion ging ganz leicht. Unsere Befürchtung, daß das Labferment als Gerinnungsferment vielleicht auch die Blutgerinnung fördern könnte, wurde also nicht bestätigt. Es entspricht dies dem Befund, den Kirchheim schon angegeben hatte, daß bei Trypsininjektion die Gerinnungsfähigkeit verlangsamt oder ganz aufgehoben sei, sowie auch den Versuchsergebnissen von Dykeroff, in vitro die Blutgerinnung durch Trypsin zu verhindern, was er durch fermentativen Abbau des Fibrinogens erklärt. Bei Betrachtung vor der Injektion zeigte die unterbundene Niere etwas wechselnde Beschaffenheit, entsprechend den schon oft beschriebenen Befunden. Sie war vergrößert, geschwollen und zeigte mehr oder minder große Stauung, offenbar durch den erhaltenen Blutstrom aus den Kollateralen von Ureter, Nierenbecken und Kapsel. Eine weitere makroskopische Beobachtung war die deutliche Verdrängung des in der gesunden Niere und in der unterbundenen vorhandenen Blutes. Beide Nieren, die unterbundene stärker als die rechte, nahmen eine erst fleckweise, dann sich mehr und mehr über das ganze Organ ausbreitende graugelbliche Verfärbung während der Injektion an. Wurden nach der Injektion die Nieren wieder durchströmt, so verschwand die blasse Verfärbung allmählich, so daß nach 30 Minuten bei makroskopischer Betrachtung die rechte Niere normal, die linke vergrößert und manchmal fleckweise dunkelrot gefärbt, gestaut aussah.

Nach Ablauf der Versuchszeit (30 Min.) erwies sich regelmäßig die Blutzirkulation noch intakt. Die Nieren wurden herausgenommen und halbiert und vor allem die Schnittflächen makroskopisch verglichen; dabei zeigte es sich, daß die Rinde der unterbundenen Niere gegenüber der der nicht unterbundenen Niere eine graulehmige Beschaffenheit mit einer etwas matten Schnittfläche hatte. Bei der unterbundenen Niere war auch die Marksubstanz immer stark gestaut, wodurch die eigenartige Rindenverfärbung im Vergleich zu der gleichmäßig glänzenden Kontrollniere noch deutlicher in Erscheinung trat. Sowohl an frischen Zupfpräparaten wie an den mit dem Messertiefkühler hergestellten, in physiologischer Koch-

salzlösung eingelegten Gewebsschnitten fand sich beim Vergleich beider Nierenrinden eine deutliche Trübung der Tubuli contorti. Ein Bild entsprechend dem der Koagulationsnekrose beim Infarkt konnten wir niemals feststellen. Bei in üblicher Weise hergestellten, vorher fixierten Gewebsschnitten konnten keine Unterschiede irgendwelcher Art hinsichtlich einer Eiweißgerinnung festgestellt werden. Zwar bestand ein Unterschied zwischen der unterbundenen und der nicht unterbundenen Niere in der Hinsicht, daß zum Teil die Lumina der Kanälchen in der unterbundenen Niere deutlich sichtbar waren und auch die Kanälchen etwas weiter auseinander lagen. Es sind dies aber Unterschiede, die nicht auf Fermentwirkung, sondern wohl auf die bei der Unterbindung hervorgerufene Stauung, auf die Flüssigkeitsinjektion oder auf die Nichtfunktion der Niere zurückzuführen sind (Kosugi). Mit den verschiedensten Färbemethoden und auch an nativen Schnitten ließ sich niemals ein Gerinnungszustand durch Chymasewirkung nachweisen; dagegen gelang es, durch nochmalige postmortale Einwirkung auf die nativen Gewebsschnitte bei der gesunden und der geschädigten Niere (vgl. anfängliche Versuchstechnik) wieder eine deutliche Plasmagerinnung zu erzeugen, die allerdings sich wieder bei der Fixierung als reversibel erwies, also nicht vollständig der Papainverdauungsgerinnung entsprach. Diese Veränderung war bei der normalen und bei der durch Unterbindung geschädigten Niere in vollkommen gleicher Weise hervorzurufen.

Wir müssen also feststellen, daß bei der intra- und supravitalen Injektion in die Gefäße keine Gerinnung durch Chymase auftritt. Es konnte dies nur dadurch bedingt sein, daß entweder durch uns unbekannte Momente („Sistoproteinasen" zum Beispiel) bei Durchmischung mit Blut eine Hemmung oder Inaktivierung der Chysmase aufgetreten ist. In diesem Sinne würde auch beispielsweise sprechen, daß die Eiweißkörper des Blutes nicht zur Ausfällung kommen, wenn die Chymase — ähnlich wie das Trypsin in vitro — auf die Eiweißkörper des Blutes einwirkt und fermentativen Abbau eines Teiles des Bluteiweißes bedingt. Damit wäre verständlich, daß für den Übertritt und die Wirkung im Gewebe kein wirksames Ferment mehr vorhanden ist. Die zweite Möglichkeit ist die, daß trotz der zweistündigen Unterbindung die Kapillarwände der Nieren-

gefäße vollständig intakt und für die Fermentlösung nicht durchgängig waren. Wir wissen ja, daß die einzelnen Gewebselemente gegen Blutleere ganz verschieden empfindlich sind und es ist wohl denkbar, daß zwar, wie bekannt, die Epithelien der Kanälchen nach zweistündiger Ischämie dem Tode verfallen sind, während die Kapillarendothelien innerhalb von zwei Stunden in ihrer Lebenskraft noch nicht geschädigt sein müssen. Diese Unpassierbarkeit der Endothelschranke ist wahrscheinlicher, weil man sich bei einer supravitalen Injektion in die Gefäßbahn eine Hemmung des Fermentes nicht ohne weiteres erklären könnte; denn bei genügender Fermentinjektion ist ja die Gefäßbahn schließlich leer und das Ferment kann nur in irgendwelcher Weise an die Endothelien gebunden sein oder die Endothelien müssen unangreifbar sein. Da wir keine Endothel-Veränderung oder Verdauung nachweisen konnten, ist es wahrscheinlich, daß die Endothelien unangreifbar und unpassierbar sind.

Wie schon erwähnt, gehören zu den Labfermenten auch als sogenannte Parachymosine Chymotrypsin und Papainasen. Aus diesem Grunde haben wir einige wenige Versuche in ähnlicher Weise — wie oben für Chymase beschrieben — mit 1‰ Papainlösung und 1% Trypsinlösung gemacht. Auch bei diesen Versuchen konnten wir keine Gerinnungswirkung, aber auch keine wesentliche Verdauungswirkung des Fermentes bei intra- und supravitaler Injektion nachweisen. Weder auf die unterbundene noch auf die Kontrollniere wirkte das Ferment in irgend einer Weise ein. Neben diesen an sich negativen Versuchsergebnissen bringen die arteriellen Injektionen in normale und durch Unterbindung geschädigte Nieren andererseits einen Anhaltspunkt dafür, daß die meist angenommene Hypothese von der Ungiftigkeit der Fermente für lebende Zellen zutrifft. In die Blutbahn eingebrachte Fermente wirken (vielleicht Papain ausgenommen?) nicht giftig (vgl. Oppenheimer); etwa auftretende Giftwirkungen sind wahrscheinlich auf Eiweißabbauprodukte zurückzuführen. Unsere Versuche, die für ein Intaktsein der Kapillarendothelien sprechen, stimmen überein z. B. mit der Ansicht von Oppenheimer (S. 801): „Die lebende Zelle aber und noch mehr natürlich ganze Gewebe oder Organe haben einen besonderen Schutz in der Struktur ihrer Oberflächen."

Die Versuche haben also ergeben: Es ist durch Einwirkung von

Chymase auch im Protoplasma der Zellen eine der Milchgerinnung vielleicht entsprechende Protoplasmaausfällung erzielbar. Diese Ausfällung kann nicht intravital durch Fermentinjektion in die Gefäßbahn hervorgerufen werden. Auch supravital ist bei Injektion in die Gefäßbahn die Fällung nicht zu erzielen. Entweder weil das Ferment irgendwie in der Blutbahn gehemmt oder gebunden wird oder, was wahrscheinlicher ist, die Endothelschranke nicht für das Ferment passierbar ist, da die lebende Zelle einen besonderen Schutz in der Struktur ihrer Oberfläche besitzt.

Es lohnt sich, zu besprechen, inwieweit aus diesen Versuchsergebnissen Schlüsse auf intravitale Gerinnungsvorgänge, etwa am Beispiel des anämischen Infarkts, gezogen werden könnten. Schon Weigert hat ja die Koagulation im Infarkt in Analogie mit der Fibringerinnung als Fermentwirkung aufgefaßt. Eine solche Fermentwirkung müßte entweder durch Herbeibringung des Fermentes mit der noch erhaltenen kollateralen Blutzirkulation oder mit der Diffusionsströmung erklärt werden, sofern man nicht annimmt, daß es sich nicht um intrazellulär vorhandene Kathepsine (Papainase ähnliche) Fermente handelt. Gegen die letztere Annahme wendet sich Borger, der im Hinblick auf das Wirkungsoptimum der Papainasen bei Ph 5 entsprechend dem isoelektrischen Punkt der Zelleiweißkörper sich gegen die Möglichkeit einer Kathepsinwirkung ausspricht und der auch nachgewiesen hat, daß in den Infarkten selbst eine schnelle Abnahme des Fermentgehaltes vor sich geht (sei es durch Zerstörung oder Bindung). Andererseits konnten wir zeigen, daß die Endothelien, so lange sie intakt und lebend sind, für die Fermente wohl unpassierbar sein dürften. Man kann sich eigentlich nur vorstellen, daß erst dann von außen oder von der Gefäßbahn her Fermente auf die Zellen selbst einwirken können, wenn die Endothelschranken durch Schädigung für das Ferment passierbar werden oder wenn das Ferment durch die „Diffusionsströmung" herbeigebracht wird. Wir sehen also, daß beim Versuch, die intravitale Gerinnung des Gewebes ursächlich zu klären, außerordentlich komplizierte und verwickelte Verhältnisse zu berücksichtigen sind, die nicht leicht einer Erklärung zugänglich scheinen. Trotzdem dürfen wir nach allen bisherigen Ergebnissen nicht ablehnen, daß diese Gerinnungsvorgänge (etwa beim Infarkt) doch durch Fermentwir-

kung hervorgebracht werden können. Unsere Versuche an nativen Gewebsschnitten haben jedenfalls gezeigt, daß Labferment im Ph-Bereich, das dem des frischen, eben entstandenen Infarktes entspricht (6,0—6,5), Protoplasmafällungen hervorrufen kann und daß bei diesen Fällungen hemmende und fördernde Momente (Ca-Ionen) beobachtet werden können.

Zusammenfassung:

Es gelingt durch Einwirkung von Labferment an nativen Nierenschnitten eine Eiweißfällung im Protoplasma der gewundenen Kanälchen hervorzurufen bei einem Ph-Bereich 6,0—6,5, wobei $CaCl_2$ zum Teil fördernd, zum Teil hemmend wirkt. Bei intravitaler und supravitaler Injektion in die Nierenarterie läßt sich diese Fällungswirkung nicht auslösen.

Am Schlusse dieser Abhandlung möchte ich meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. Groll, für die Überlassung des Themas und die liebenswürdige Unterstützung bei der Bearbeitung den wärmsten Dank aussprechen.

Schrifttum:

Aschoff: Lehrbuch der Pathologischen Anatomie, Band 1.

Borger: Hoppe Seylers Zeitschrift für physiologische Chemie, Band 217, Heft 5 und 6, Band 234 Heft 6.

Dietrich: Allgemeine Pathologie und pathologische Anatomie, Band 1.

Dykeroff: Biochemische Zeitschrift, Band 288 (1936), Heft 4.

Groll: Über die Einwirkung von Fermentlösungen auf Gewebsschnitte II, Zieglers Beiträge zur pathologischen Anatomie, Band 93, Heft 3.

Holter: Oppenheimer S. 869, 870.

Kirchheim: Untersuchungen über Trypsinvergiftung, Archiv für experimentelle Pathologie und Pharmakologie, Band 74 (1913).

Kosugi: Zieglers Beiträge zur pathologischen Anatomie, Band 77.

Krehl und Marchand: Handbuch der allgemeinen Pathologie, Band 3, Abteilung 1.

Oppenheimer: Die Fermente und ihre Wirkungen, S. 801, Supplementlieferung 5 und 6.

Richardson u. Palmer: Oppenheimer Supplement, Lieferung 5 und 6.

Rüdiger u. Wurster: Biochemische Zeitschrift 216 (1909).

Schnappauf: Der Niereninfarkt als Reimplantat, Zieglers Beiträge zur pathol. Anatomie, Band 79.

Tauber u. Kleiner: Oppenheimer Supplement-Lieferung 5 u. 6.

Wieszeniewski: Veränderung nach temporärer Abklemmung der Nierenarterie, Zieglers Beiträge zur pathol. Anatomie, Band 53, Heft 1.

Lebenslauf.

Am 20. Dezember 1912 wurde ich zu München geboren als Sohn des nunmehrigen Geheimen Justizrats und Universitätsprofessors Dr. Heinrich Schanz und seiner Ehefrau Maria geb. Braun.

Die Volksschule besuchte ich zwei Jahre in München bis zum Mai 1921 und dann zwei Jahre in Würzburg. Im Jahre 1923 trat ich in die erste Klasse des Neuen Gymnasiums zu Würzburg ein. Gegen Ende des ersten Schuljahres erkrankte ich an einer tuberkulösen Lungeninfektion. Im Januar 1925 kam ich nach Davos, wo ich die zweite Gymnasialklasse absolvierte. Im Mai 1926 nach Würzburg zurückgekehrt, erhielt ich zunächst Privatunterricht und machte dann 1927 die Aufnahmeprüfung in die 4. Klasse des Neuen Gymnasiums zu Würzburg. Die Anstalt verließ ich am 5. April 1933 mit dem Zeugnis der Reife.

Im Frühjahr 1933 immatrikulierte ich mich an der Universität Würzburg und widmete mich dem Studium der Medizin. Durch Krankheit infolge eines schweren Verkehrsunfalles verlor ich nach dem Sommersemester 1933 zwei Semester. Den ersten Abschnitt der ärztlichen Vorprüfung bestand ich am 16. März 1935 in Würzburg, den zweiten Abschnitt am 19. Februar 1937 ebenfalls in Würzburg. Die vorgeschriebenen fünf klinischen Semester hörte ich auch an der Universität Würzburg.

Seit 26. August 1939 bin ich zum Heeresdienst eingezogen und stehe derzeit im Felde.

———

Ehrenwörtliche Versicherung.

Ich versichere hiermit ehrenwörtlich, daß ich vorliegende Arbeit selbständig verfaßt und außer der angegebenen Literatur keine fremden Hilfsmittel benutzt habe.

Walter Schanz.